

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 97196964.7

[43]公开日 1999年8月25日

[11]公开号 CN 1226834A

[22]申请日 97.7.21 [21]申请号 97196964.7

[30]优先权

[32]96.8.1 [33]DE [31]19631084.9

[86]国际申请 PCT/EP97/03899 97.7.21

[87]国际公布 WO98/05360 德 98.2.12

[85]进入国家阶段日期 99.2.1

[71]申请人 BASF 公司

地址 联邦德国路德维希港

[72]发明人 K·科尔特 T·苏布科夫斯基

M·拉迪特施 V·舍尔曼

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 卢新华 吴大建

权利要求书 1 页 说明书 11 页 附图页数 3 页

[54]发明名称 使用(甲基)丙烯酸共聚物增加粘膜的渗透性

[57]摘要

本发明涉及(甲基)丙烯酸共聚物对增加粘膜渗透性的应用,其中共聚用单体是甲基丙烯酸酯和/或其他能够进行自由基聚合的单体,(甲基)丙烯酸:共聚用单体的摩尔比率为 99:1 至 1:99。

ISSN 1008-4274

它们以无定形存在，并由此呈较好的可溶性。

本发明的目的是寻找一种聚合物，它能够可逆地增加上皮细胞的渗透性、同时又没有上述应用技术方面的缺点，或者不会引起毒性问题。

意外地发现，通过使用（甲基）丙烯酸共聚物，达到了增加粘膜渗透性以及由此提高了活性物质的渗透。

按照本发明的共聚物包含，作为单体的丙烯酸或甲基丙烯酸，它们能够以其游离酸、其盐和/或其酐的形式使用。

如果将单体以其盐的形式应用于聚合，那末所优选的是碱土金属、碱金属或铵盐或者有机胺盐，特别优选的是碱金属或铵盐。

作为其他共聚用单体是（甲基）丙烯酸酯和/或其他能够进行自由基聚合的单体。使用饱和的、直链的或支链的 $C_1 \sim C_{40}$ 醇的（甲基）丙烯酸酯。例如丙烯酸的甲酯、乙酯、正丙酯、异丙酯、正丁酯、异丁酯、叔丁酯、正己酯、正辛酯、异壬酯、正癸酯、正十二烷酯、正十四烷酯、正十六烷酯、正十七烷酯、正十八烷酯、正十九烷酯、正二十烷酯、正二十二烷酯、正二十四烷酯、2-乙基己酯、异冰片酯，或丙烯酸环己酯，或相应的甲基丙烯酸酯。优选使用丙烯酸或甲基丙烯酸的 $C_1 \sim C_6$ 和/或 $C_6 \sim C_{30}$ 烷基酯。特别优选的具有 $C_1 \sim C_6$ 链的代表物是甲基丙烯酸甲酯、丙烯酸乙酯和丙烯酸丁酯，以及具有 $C_6 \sim C_{30}$ 链的代表物（甲基）丙烯酸的 $C_8 \sim C_{22}$ 烷基酯。

此外，也能使用苯乙烯和/或饱和 $C_1 \sim C_{30}$ 羧酸的乙烯基酯作单体单元。其优选的实例是乙酸乙烯酯和/或丙酸乙烯酯。

本发明的共聚物中的（甲基）丙烯酸：共聚用单体的摩尔比率能够在大范围内变化。例如，其范围为 99:1 - 1:99，优选为 70:30 - 30:70。

通常共聚物以药物组合物的形式与活性物质一起服用。适宜的药物形式是片剂、压出物、颗粒、丸、粉末、胶囊、栓剂、软膏、悬浮物或乳剂，根据应用可经口、舌下、颊、直肠、肺、鼻或眼粘膜进行给药。所优选的药物形式是：(a) 基质片剂，(b) 层状片剂和(c) 涂膜片剂。特别是按照本发明将聚合物和活性物充分混合再压制在一起的基质片剂是具有高活性潜力的给药形式。在这些给药形式中，所使用的本发明的共聚物的含量一般为该给药形式总量的 50 % 以上，特别是 60 - 99 %，最好为 75 - 99 %。然而，也可以先用增加渗透性的共聚物处理诸如肠、

咽 - 或眼粘膜, 然后再供给活性药物。

通常, 上述给药形式是采用加入填充剂、粘结剂、分裂剂、润滑剂或其他辅助物质生产的。应用于片剂的填充剂和干粘结剂特别是乳糖、蔗糖、甘露糖醇、山梨糖醇、微晶纤维素、淀粉、磷酸二钙和聚乙二醇。

5 适于造粒的粘结剂例如是淀粉、藻酸盐、聚乙烯吡咯烷酮和羧甲基纤维素。适宜的流动调节剂例如是淀粉、滑石和二氧化硅。在机械生产片剂中能够使用的润滑剂是硬脂酸镁和其他金属皂。常规片剂分裂剂包括淀粉、纤维素衍生物和交联聚乙烯吡咯烷酮。

10 根据应用领域和活性物质, 本发明的共聚物最好以中和的、部分中和的或未中和的形式使用。如果共聚物是未中和的形式, 那末或者由其他辅助物质和/或直接由活性物质组成的碱或质子接受体的存在常常是有利的。

如果活性物质是碱性的, 那末它能够全部地或部分地与本发明的共聚物呈盐的形式。

15 共聚物可按文献中公开的方法制备, 例如: 溶剂聚合法、悬浮聚合法或乳液聚合法, 所优选的是乳液聚合法。

乳液聚合法使用诸如过氧 - 或偶氮化合物的引发剂以常规方法进行, 引发剂的实例有二苯甲酰氧化物、过新戊酸叔丁酯、过 2 - 乙基己酸叔丁酯、二叔丁基过氧化物、叔丁基氢过氧化物、碱金属 - 或铵过硫酸盐、偶氮二异丁腈、2,2' - 偶氮二(2 - 甲基丁腈)、2,2' - 偶氮二(2,4 - 二甲基戊腈)、1,1' - 偶氮二(1 - 环己烷腈)、2,2' - 偶氮二(2 - 咪基丙烷)盐、4,4' - 偶氮双(4 - 氰基戊酸)或 2 - (氨基甲酰基偶氮)异丁腈等, 也可用过氧化氢或氧化还原引发剂。引发剂的用量按聚合单体重量计通常为高达 10 %, 优选 0.02 ~ 5 %。

25 聚合作用在有为此目的的常规乳化剂和/或保护胶体存在下进行。适宜的保护胶体的实例是聚乙烯醇、纤维素衍生物或聚乙烯吡咯烷酮。乳化剂能够是阴离子性的、阳离子性的或非离子性的。适宜的乳化剂的实例是乙氧基化的单 -、二 - 和三烷基酚、乙氧基化的脂肪醇或脱水山梨糖醇酯, 烷基硫酸或烷基醚硫酸的、烷基磺酸的、木素磺酸的和烷基芳基磺酸的或烷基二苯醚磺酸的碱金属 - 和铵盐。

30 乳液聚合法通常在隔绝氧的条件下在 20 ~ 200 °C 下进行。能够间歇或连续进行聚合反应。

最好在聚合作用期间以恒定速度计量地向反应器加入的物料包括：至少单体部分、引发剂和需要时加调节剂如醛、卤化合物或硫化合物，例如甲醛、乙醛、溴三氯甲烷、巯基乙醇、巯基乙酸或十二烷硫醇。然而，单体和引发剂也可以最初就存在于反应器中，并进行聚合，需要时必须冷却。

这样得到重均分子量为 50,000 ~ 2,000,000 的共聚物。平均分子量为 20,000 ~ 1,500,000，特别是 120,000 ~ 400,000 的共聚物特别适用于本发明的应用。

所有常规工艺均可用于干燥聚合物分散体，例如薄膜干燥、流化床干燥、喷雾干燥或冷冻干燥。

按照本发明所使用的聚合物的渗透性能的增加，在以实例 Caco-2 细胞培养物（ATCC 公司，Pockville，美国马里兰州）的生物体外的试验系统中得到了证明。该细胞系在聚碳酸酯膜上形成组织集聚，在外观和蛋白质组成方面与小肠内皮非常相似。在 Transwell 系统中（Costar 公司出品，德国 Bodenheim），这种人造内皮组织把用介质充填的两个腔分成顶区室和基底外侧区室。这种结构使得通过 Caco-2 组织层的物质的渗透可被测定。其中，上皮渗透阻力（TEER）和荧光示踪化合物[例如，荧光素 - 异硫氰酸盐 - 葡聚糖（FITC - dextran - 4400；FITC - dextran - 11000）；荧光素 - 生物素 = （生物素 - 酰氨基己酰基酰氨基） - （戊基硫脲基） - 荧光素]渗透过细胞单层表明了紧密连接开或关闭到什么程度。通过紧密连接的可逆性打开表明渗透性得到改善。

实验性实例：

1. 细胞培养

Caco-2 细胞在 DMEM（Dulbeccos Modified Eagle 介质，Gibco BRL 公司出品，德国 Eggenstein）中采用 10 % FCS（胎儿腓肠浆液）、1 % L - 谷氨酰胺和 4.5mg/ml（毫克/毫升）葡萄糖在 37 °C 下及 5 % CO₂ 和 95 % 相对湿度进行培养。在胰蛋白酶消化之后，细胞在 Transwell 聚碳酸酯过滤器上散开，密度为 3×10^5 细胞/厘米²。用第 30 传代细胞和第 50 传代细胞之间的细胞形成单层。在细胞散开之后的 15 ~ 21 天（每 3 天更换介质一次）后对单层进行实验。

2. 渗透速度测定

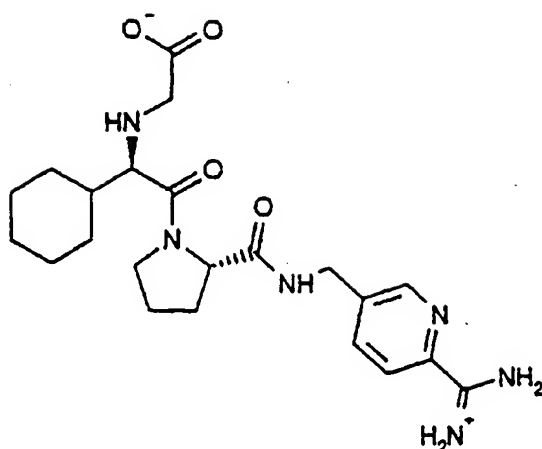
在实验之前,将在 Transwell 过滤器滤芯中的 Caco-2 细胞组织用 PBS (磷酸缓冲盐水) 洗涤。然后,用 EBSS (Earl 缓冲盐溶液, pH 6) 填充顶区室,用 DMEM 填充底外侧区室。将中和至 pH 为 7 的试验聚合物 [Kollicoat[®] MAE 30D(丙烯酸乙酯/甲基丙烯酸 1:1, BASF)、Eudragit[®] L100(甲基丙烯酸/甲基丙烯酸甲酯 1:1, Röhm)、Eudragit S100 (甲基丙烯酸/甲基丙烯酸甲酯 1:2, Röhm)] 和示踪化合物加入顶区室, 聚合物浓度为 0.5 ~ 3 % (重量), 此后, 样品再经 24 小时, 测定示踪化合物的渗透速度。

- 10 试验采用荧光分光光度法 (Spex Fluorolog 1680 : 激发波长 488nm , 发射波长 513nm) 进行分析, 在 $C_{22}H_{32}N_6O_4$ 的情况下, 采用 HPLC (高压液相色谱法 (柱材料 Vidac C-18; 流动相: 水/乙腈/0.1% 三氟乙酸; 检测: 240nm), 实验结果汇编于表 1。未进行测定者以“-”表示。

表 1:

	对照	Kollicoat [®] MAE 30 D			
		0.5 %	1.0%	1.5%	3.0%
	渗透速度[(cm/sec)·10 ⁻⁸]				
试验物质					
荧光素 - 生物素	2.3	2.3	5.8	20	-
Dextran-FITC 4400	0.8	-	9.6	-	935
Dextran-FITC 11000	2.3	-	17.0	-	769
C ₂₂ H ₃₂ N ₆ O ₄	56	79	94	280	-
	对照	Eudragit [®] L 100			
			2.0%		
	渗透速度[(cm/sec)·10 ⁻⁸]				
试验物质					
荧光素 - 生物素	2.3		4.8		
C ₂₂ H ₃₂ N ₆ O ₄	56		104		
	对照	Eudragit [®] S 100			
			2.0%		
	渗透速度[(cm/sec)·10 ⁻⁸]				
试验物质					
荧光素 - 生物素	2.3		7.1		
C ₂₂ H ₃₂ N ₆ O ₄	56		103		

C₂₂H₃₂N₆O₄ = HOOC-CH₂-(D)-Cha-Pro-NH-3-(6 - Am)-Pico



从表 1 显而易见, 所有三个试验聚合物均显示提高渗透性的性能。与对照试验比较, 使用 Kollicoat[®] MAE 30D 即使浓度为 1 % 和 1 % 以上也使渗透明显提高。

3. 跨上皮阻力 (TEER) 的测定

本发明聚合物对组织紧密度 (紧密连接的打开) 的影响是通过测量跨上皮电阻测定的。在 Caco-2 细胞组织用 PBS 洗涤之后, 顶区室用 EBSS (pH 6) 填充, 底外侧区室用 DMEM 填充。在将中和至 pH 7 的聚合物以不同浓度 (0.1 - 2 %) 加入到顶区室之前和之后的不同时刻, 测定 TEER (图 1: Kollicoat[®] MAE 30D; 图 2: Eudragit[®] L100; 图 3: Eudragit[®] S100)。在 150 分钟之后, 用 pH 为 6 的 EBSS 置换该溶液, 并基于 TEER 以研究组织再生。

Eudragit[®] S 和 L100 两者以及特别是 Kollicoat[®] MAE 30D 导致测量时的 Caco-2 细胞单层的跨上皮明显的下降。

4. 给药形式的实例

Atenolol (阿替洛尔) 涂膜片剂

Atenolol	50mg
Ludipress [®]	50mg
甲基丙烯酸 - 丙烯酸乙酯共聚物 (1:1), 中和至 pH7	146.5mg
Aerosil - 200 [®]	2mg
硬脂酸镁	1.5mg
片重	250mg

e. S - Adenosylmethionin (S - 腺昔甲硫氨酸) 锭剂

S - Adenosylmethionin	100mg
甲基丙烯酸 - 丙烯酸乙酯共聚物 (1:1), 中和至 pH7	700mg
甘露糖醇	200mg
天冬苯丙二酞酯	3mg
橙香料	5mg
Kollidon® VA 64	37mg
Aerosil 200®	5mg
硬脂酸镁	5mg
片重	1055mg

- 5 500g S - Adenosylmethionin、3500g 中和至 pH7 的甲基丙烯酸/丙烯酸乙酯共聚物、1000g 甘露糖醇、15g 天冬苯丙二酞酯、25g 橙香料、25g Aerosil 200 和 185g Kollidon® VA 64 经 0.8mm 筛子过筛, 再在 Turbula 混合器中混合 5 分钟。然后, 加入 25g 经 0.5mm 筛子过筛过的硬脂酸镁, 并在其中混合 2.5 分钟。在旋转压片机中于 35kN 压力及 30 转/分钟的速度下压制出双平磨面的重 1055mg 的片剂。

10 f. Cefuroxim (头孢呋辛钠) 颗粒

Cefuroximaxetil (相当 250mg Cefuroxin)	300.7mg
甲基丙烯酸 - 丙烯酸乙酯共聚物 (1:1), 中和至 pH7	1250mg
甲基丙烯酸 - 甲基丙烯酸甲酯共聚物 (1:1)	150mg
蔗糖	482.3mg
橙香料	5mg
天冬苯丙二酞酯	2mg
Kollidon® CL	30mg
Kollidon® VA 64	30mg
片重	2250mg

将 300.7g cefuroximaxetil (相当于 250g cefuroxim)、1250g 中和至 pH7 的甲基丙烯酸/丙烯酸乙酯共聚物 (1:1)、150g 甲基丙烯酸/甲基丙烯酸甲酯共聚物 (1:1)、482.3g 蔗糖、5g 橙香料、2g 天冬苯丙二酐酯和 30g Kollidon[®] CL 在 Stephan 混合器中混合, 再在搅拌的同时, 用 30g Kollidon[®] VA 64 在 390g 异丙醇中的溶液增湿。该湿物料挤压过网眼为 1.2mm 的筛子, 并置于盘上于室温下缓缓干燥 24 小时。以 2250mg 剂量将干燥颗粒包装在密封袋中。